

## РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд, представен пред научно жури,  
сформирано със заповед № Р0 38-74/31.01.2017 г  
на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски”  
за получаване за получаване на образователната и научна степен “доктор”  
Автор: **Ралица Георгиева Ангелова**  
Тема: **Характеристика на неутрофилни железобактерии и използване на  
формираните от тях биогенни оксиди в нанотехнологии**  
Рецензент: **проф. Мария Ангелова, дбн**

Железобактериите и тяхната способността да окисляват метални йони се приемат като ключов фактор в геохимичната еволюция на нашата планета. Въпреки, че тези процеси датират от преди 3.5 млрд години, те и днес са от съществена важност за екологичната характеристика на много сухоземни и водни местообитания, както и за редица биотехнологични процеси. В последното десетилетие, към този нерешен проблем на геомикробиологията се добави интересът на една нова изследователска област – нанобиотехнологията. Именно по този начин, като съчетание от една незатихваща значимост и една модерна тенденция, може да се дефинира основната насоченост на дисертационния труд на докторант Ралица Ангелова – да се получат нови знания за биологията на тази група бактерии, образуваните от тях специфични обвивки и приложението им в различни нанотехнологични продукти. Всичко това е аргумент за актуалността на тезата и доказва нейното съвременно ниво.

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 204 стандартни компютърни страници и е онагледен с 35 таблици и 120 фигури, повечето от които са комплексни. Една част от тях са включени в разделите „Литературен обзор” и „Материали и методи” и това несъмнено помага на читателя при възприемане на текста. **Литературният обзор** отразява интердисциплинарния характер на разработката. На 60 страници, докторантката представя съвременното състояние на комплексния проблем в световен мащаб, който включва както биологията и таксономията на неутрофилните железобактерии, тяхното разпространение и екология, характеристиката на образуваните от тях калъфни структури, така и възможностите за приложение в нанотехнологиите. Този раздел се характеризира с логична последователност, изчерпателност и целенасоченост. Отразени са постиженията в областта, нерешените въпроси и дори трудностите, с които се срещат изследователите. Подробно са разгледани методите за идентификация на бактериите от

групата *Sphaerotilus–Leptothrix*. Със същата детайлност е направен преглед на литературните данни, публикувани относно железните оксиди и тяхното приложение в нанотехнологиите. Всичко това е указание, че Ралица Ангелова познава в дълбочина проблема, върху който работи. Много полезна идея е включването на подраздел „Заключение”, в което докторантката накратко отбелязва съвременните тенденции в изследванията и дава възможност на читателя да получи информация за новото в разработката. Добре би било да се отрази по-ясно българският опит в това направление.

Литературната справка е изключително обширна. Включени са 538 източника на латиница, като над 50% са от последните 10 години, а над 20% - от последните 5. Тези данни показват още веднъж актуалността на темата и стремежът на докторантката и нейните научни ръководители да намерят неизследвана ниша в това направление.

Въз основа на задълбочения анализ в обзора е изведена целта на настоящата дисертация, касаеща охарактеризиране на неутрофилни железобактерии от групата *Sphaerotilus-Leptothrix* и проучване на потенциалните възможности за приложение на формираните биогенни оксиди/хидроксиди в електрониката, катализата и екологията. Тя е дефинирана ясно и конкретно, за нейното реализиране са формулирани 5 взаимно обвързани и логически следващи задачи.

**Разделът "Материали и методи"** е представен с много широк набор от подходи и техники, съобразени с конкретните изисквания на експеримента от областта на микробиологията и нанотехнологиите. Включено е подробно описание на местообитанията и вземането на пробите, работни протоколи от молекулярните методи за идентификация (16S ДНК PCR, RFLP анализ на рДНК), анализи на оксидите, характеристика на наноматериалите и др. Заслужава да се подчертае използването на рентгено-структурен анализ (XRD), Раманова спектроскопия, електронно-микроскопски анализи, Мьосбаурова спектроскопия, неутронно-активационен анализ. Разделът е онагледен със схеми, таблици и снимки, обхваща 22 страници и може да се използва като методично ръководство за проучваните проблеми. Експериментите са проведени със съвременна апаратура.

Докторантката е представила схема на експерименталната работа (Фиг. 46), с която дава възможност на читателя да добие представа за последователността и взаимовръзката между отделните задачи.

**В раздел „Резултати и дискусия”** е включен огромен експериментален материал, който се характеризира с логическа последователност. Отделните етапи са разработени обстойно, като в същото време, всеки един от тях е отправна точка за

следваща насоченост на научното изследване. Това придава на дисертацията характеристика за цялостност.

Като започва с изолиране на чисти култури от род *Leptothrix* от подходящи местообитания, докторантката прилага класически и молекулярни методи за тяхното идентифициране. В предвид на трудностите, които съпътстват работата на всички изследователи при таксономичния анализ на този род бактерии, Ангелова прилага RFLP анализ на 16S рДНК фрагменти и биоинформатичен анализ. Много добро впечатление прави фактът, че тя критично дискутира получените резултати за вътревидовото разнообразие и търси обяснения за липсата на достоверни данни, както от собствените изследвания, така и от публикувани в литературата.

В следващия етап, докторантката оптимизира условията за получаване на калъфи в лабораторни условия и охарактеризира техните свойства. Използвани са адекватни на експериментите съвременни методи – светлинно- и електронно-микроскопски (SEM, TEM) наблюдения и XRD анализ. Изключително мащабно е проучването на растежните параметри на изолираните щамове. За всяка от хранителните среди е установено влиянието на рН, динамиката на синтеза при различен тип култивиране, динамиката на окисление на  $Fe^{2+}$ , растежните криви и микроскопската характеристика. Следва анализ на формираните желязни оксиди/(окси)хидроксиди чрез различни физични методи. С помощта на XRD анализ са получени спектрите на биогенните материали, определен е размера и кислородния параметър на желязо-оксидните частици, доказано е наличието на магнетит. Рамановите спектри показват съдържание на лепидокроцит и гъотит в материал от култивиране на бактериите върху различни хранителни среди. Тяхната кристална структура е доказана и чрез електронно-микроскопски изследвания. Данните дават възможност на автора да предположи начина на образуването им.

Много подробно е изучено магнитното поведение на проби, съдържащи калъфи, получени върху 4 среди (Адлер, SIGP, Лиске и ИССЛ). Чрез определяне на магнитните хистерезисни криви е установено съдържание на биогенните материали, което е в зависимост от вида на средата. Тази серия експерименти доказва суперпарамагнитните свойства на магнетита и относително ниската му намагнитеност при стайна температура, която според авторката се дължи на ефект на минерализация на повърхността на частиците. Следват анализите на Мьосбауеровите параметри на биогенните материали, синтезирани от изолираните щамове и на тези, събрани от местообитанията. Данните допълват характеристиката на лепидокроцита, гъотита и магнетита и дават информация за състоянието на повърхностния слой с дебелина 3 nm.

В тази посока са и проведените неутронно-активационни анализи за определяне елементния състав на оксидите, които доказват високото ниво на желязо във всички проби, получени в лабораторни условия в сравнение със събраните от естествената среда.

Като логическо завършек на цялата разработка е последният етап, който включва детайлно изследване на възможностите за приложение на синтезираните оксиди в електрониката, катализата и екологията. С поредица от съвременни подходи е установено, че основните фази, които се формират в резултат на жизнената дейност на бактериите са лепидокроцит, гьотит и магнетит, доказана е тяхната морфология и предимствата им пред природните материали при използването им в суперкондензатори, като адсорбенти на багрила, белтъци и тежки метали и носители на катализатори за окисление на CO.

Казаното до тук очертава мащабността на разработката, обхвата на изследванията и разнообразието на подходите и експерименталните техники. Докторантката много коректно отразява получените данни, които са включени в 74 фигури и 28 таблици. Обсъждането на резултатите и предложените обяснения допълват впечатлението за правилно избрана докторантска теза и научен подход за доказване на поставената цел. Това, разбира се, е възможно благодарение на много доброто познаване на проблема, задълбочената научна разработка и компетентната научна среда, в която е реализирана.

В края на дисертационния труд е оформен раздел „Обобщение”, който има характер на разширено представяне на изводите от експерименталната работа. Тази идея на автора дава възможност на читателя много точно да се ориентира в разработката и да възприеме постиженията в нея.

Искам със задоволство да подчертая много доброто оформление на дисертацията, стегнатия научен стил, на който е написана, отличното качество на снимките (макро- и микроскопски), електрофорезите, спектралните изображения, както и професионално представяне на фигурите и таблиците.

Според мен, изводите са логично следствие от експерименталните данни и дават необходимата информация за стойността на проведените изследвания. Приемам и формулировката на приносите, но считам, че те са повече от тези, представени от автора. В разработката се откроят сериозни теоретични приноси, както оригинални, така и потвърдителни, които по същество се отнасят до следното:

1. Получени са нови знания за неутрофилните железобактерии от групата *Sphaerotilus-Leptothrix*.

2. Установени са нови данни, които разширяват характеристиката на тези бактерии.
3. За първи път от български местообитания са изолирани неутрофилни железобактерии, образувачи калъфни структури.
4. Постигната е детайлна характеристика на свойствата на синтезираните биогенни железни оксиди/(окси)хидроксиди от типа лепидокроцит, гьотит и магнетит.
5. За пръв път калъфните структури на *Leptothrix* sp. са използвани като адсорбент за багрила и е доказан високият им адсорбционен капацитет.
6. Разработени са асиметрични суперкондензаторни системи с екстремни параметри, които използват композит от активен въглен и биогенни железни оксиди.

Искам да отбележа, че докторантката е взела предвид забележките и препоръките, посочени от мен в предварителната рецензия за апробацията. Към нея имам следните въпроси:

1. Каква е физиологичната роля на образуваните калъфни структури за бактериалната клетка; доколко този процес е контролиран и регулиран *in vivo*?
2. Предвид Вашата широка литературна осведоменост и получените резултати, в каква насока трябва да продължи работата по проблема?

Публикационната активност на докторантката е впечатляваща. Данните от дисертацията са включени в 14 научни статии и 20 участия в научни форуми. Всички статии са журнални, 4 са отпечатани в списания с IF (J Biol Phys, J Magn Mater и Mater Sci Eng C), общият IF е 8.565. Докладите са представени на 15 международни и 5 национални форума. Това ми дава основание да считам, че резултатите на Ралица Ангелова са получили и международно признание.

Освен това, докторантката е участвала в разработването на 3 научноизследователски проекта (2 финансирани от ФНИ и 1 от СУ), свързани с темата на дисертацията. Те несъмнено са допринесли за повишаване квалификацията на Ангелова и оформянето ѝ като млад учен. Моите **лични впечатления** я определят като сериозен изследовател с изявено умение да работи в екип.

Тук е мястото да отбележа и ролята на научните ръководители на докторантката, проф. Грудева и проф. Недков, които със своя опит и авторитет в съответните направления застават зад актуалната тематика и постиженията на разработката.

В заключение искам да подчертая, че материалът е дисертабилен, темата е изключително актуална и перспективна, експериментите са поставени методично правилно и са осъществени на високо съвременно ниво. Получените резултати са достоверни и са солидна база за следващи научни и приложни разработки, открояват се оригинални научни и приложни приноси. В процеса на обучение докторантката е усвоила широк набор от модерни методи, а така също уменията да интерпретира получените резултати.

Въз основа на направения разбор и като имам предвид актуалността и нивото на работата, **убедено предлагам на уважаемите членове на Научното жури, сформирано със заповед № P038-74/31.01.2017 г. на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски” да присъдят на Ралица Георгиева Ангелова образователната и научна степен “доктор”.**

05.03.2017 г.

София

Рецензент: проф. М. Ангелова, дбн